

CIRAD
ATP 96/21

SÉMINAIRE GESTION RAISONNÉE DES RÉSISTANCES
DES PLANTES AUX PATHOGÈNES

MONTPELLIER 11-12 SEPTEMBRE 1997

Etude des populations de *Mycosphaerella fijiensis* et
amélioration génétique du bananier pour la
résistance à la maladie des raies noires

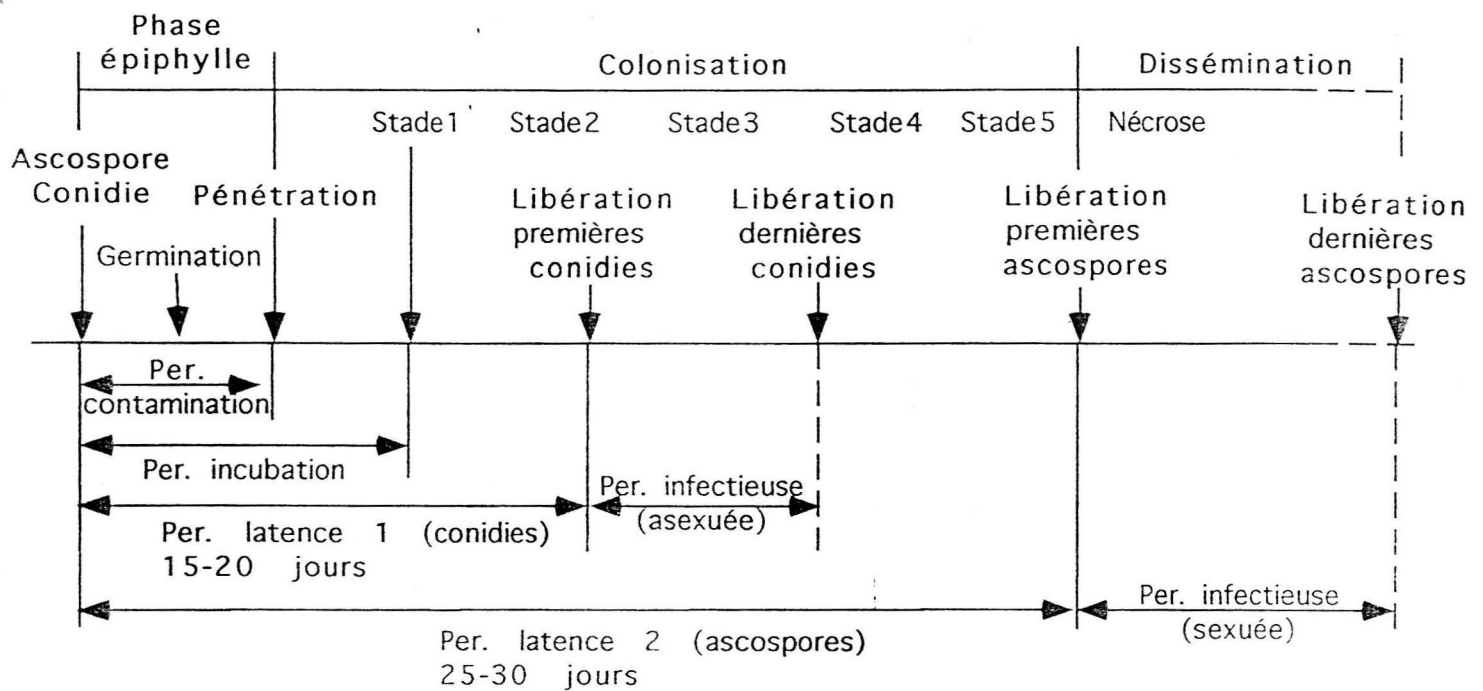
Le pathosystème *M. fijiensis* - Bananier

Résultats obtenus et implications

Techniques développées

Orientations

J. CARLIER



Cycle infectieux de *Mycosphaerella fijiensis*

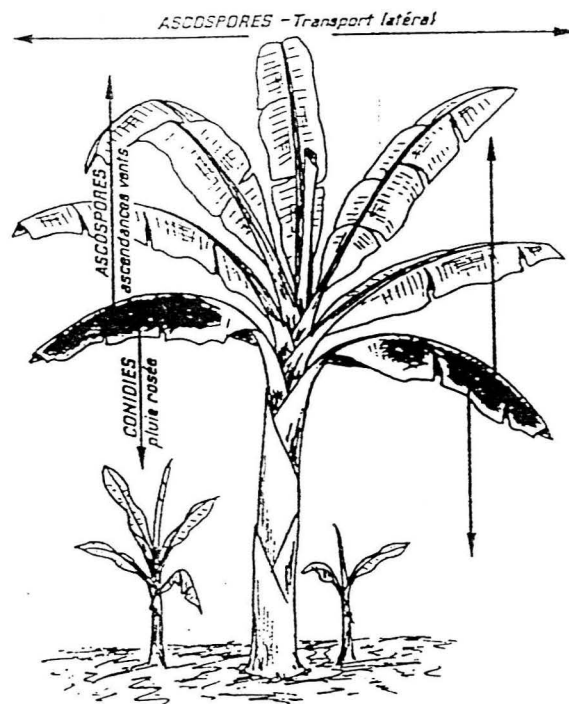


Figure 11 : Schéma indiquant les différents types possibles de transport des conidies et des ascospores de *Mycosphaerella fijiensis* (d'après Brun, 1963).

TABLEAU 6 - Caractérisation de la résistance au champ de bananiers appartenant à divers groupes génétiques.
Durée d'évolution de la maladie du stade 1 au stade nécrose.

Noms introductions	Génotype	Niveau résistance	Evolution stade 1 - stade nécrose (jours)
1 - Pisang Berlin	AAcv	2	51
2 - Pa Musore	AAAs	1	--- blocage au stade 1
3 - Pa Pathalong	AAAs	2	48
4 - Mak	AAcv	2	45
5 - Khae (Phrae)	AAAs	1	--- "
6 - Pisang Madu	AAcv	3	27
7 - Tuu Gia	AAcv	1	--- "
8 - Bornéo	AAAs	3	42
9 - <i>M. acuminata siamea</i>	AAAs	1	--- "
10 - Thong Pet	AAAs	2	49
11 - Tani	BBs	2	48
12 - Klutuk Wulung	BBs	2	--- "
13 - Khom Bao	AAA	1	--- "
14 - Khom	AAA	1	--- "
15 - Yangambi	AAA	1	--- "
16 - Pisang Glintong	AAA	4	16
17 - Intokatoke	AAA	4	17
18 - Gorolo	AAB	2	53
19 - Pisang Pulut	AAB	4	18
20 - Pisang Kelat	AAB	2	45
21 - Fougamou	ABB	2	60
22 - Maduranga	ABB	3	39
23 - Benedetta	ABB	3	36
24 - Simili Radjah	ABB	2	57

Vitesse d'évolution de la maladie du stade 1 au stade nécrose. Valeur moyenne obtenue au cours des quatre mois les plus favorables à la maladie.

Les marquages de feuilles (cigares au stade 2) n'ont pu, au cours de cette étude, être effectués sur la totalité des musacées étudiées.

RESULTATS OBTENUS

Diversité génétique élevée chez *M. fijiensis*

(de 2 à 8 allèles par locus RFLP)

Rôle important de la recombinaison

(1 Isolats= 1 haplotype sur 19 loci;
2% de déséquilibre de liaison au maximum)

Centre de diversité dans le Sud Est Asiatique

Effet de fondation en Afrique, Amérique Latine et Pacifique

(Fst global de 0,32; Pops 2 à 2: 0,14 à 0,58)

Numéro cosmide/sous-fragment	Taille (kb) sous-fragment	Hybridation
• C38/F7	2.5	P1
C38/F8	1.6	M
• C63/F4	2.9	P1
C64/F6	1.4	M
• C68/F4	1.6	P2
• C90/F3	2.1	P1
• C172/F5	2.6	P1
C188/F7	1.3	M
C203/F6	2.0	M
• C213/F6	1.6	M
C235/F4	2.2	P1

Clonage de 11 sous-fragments cosmidiques

Séquençage des 2 extrémités sur 600pb

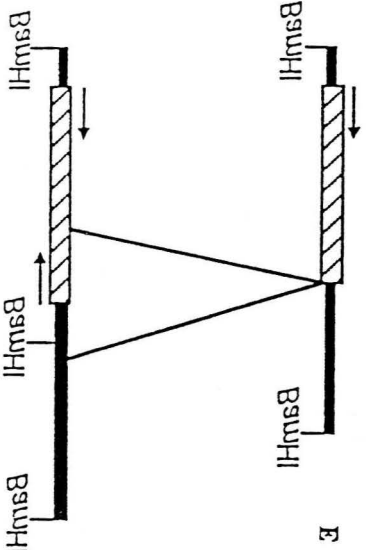
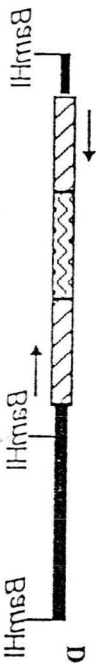
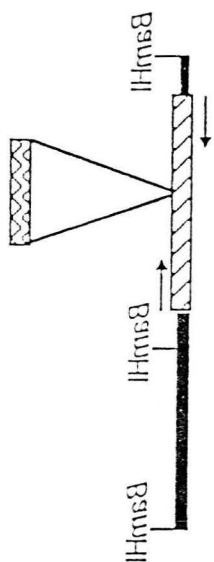
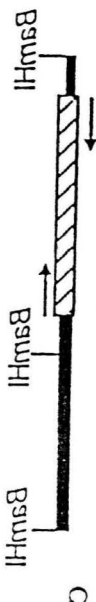
Définition de couples d'amorces

Amplification PCR des régions homologues de 50 isolats en provenance du Cameroun (14), A. Latine (13), Philippines (10) et Papouasie-Nouvelle-Guinée (13)

Recherche de polymorphisme : -par amplification seule
-après digestion des produits
d'amplification

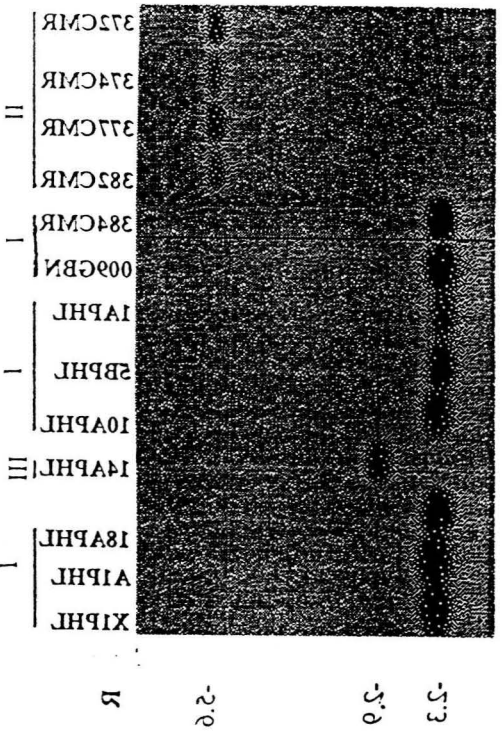
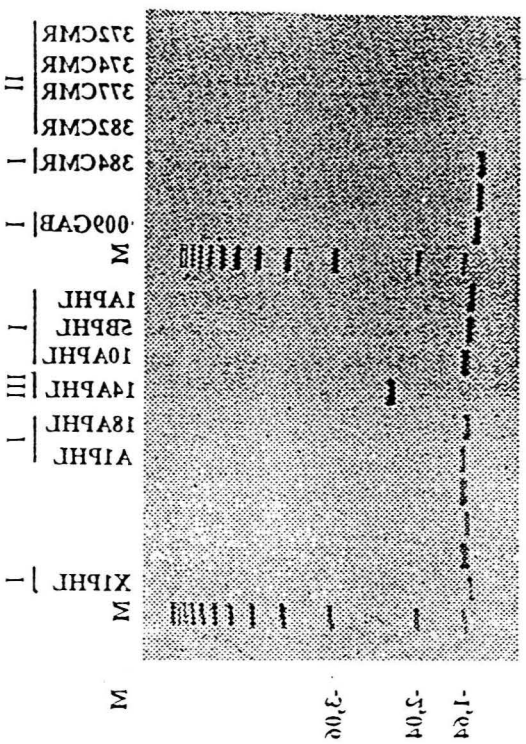
W' usardneq de tsille tsqqet en kp (Cipco BRT); R usardneq de tsille Ksont I en kp (Vbpligene).

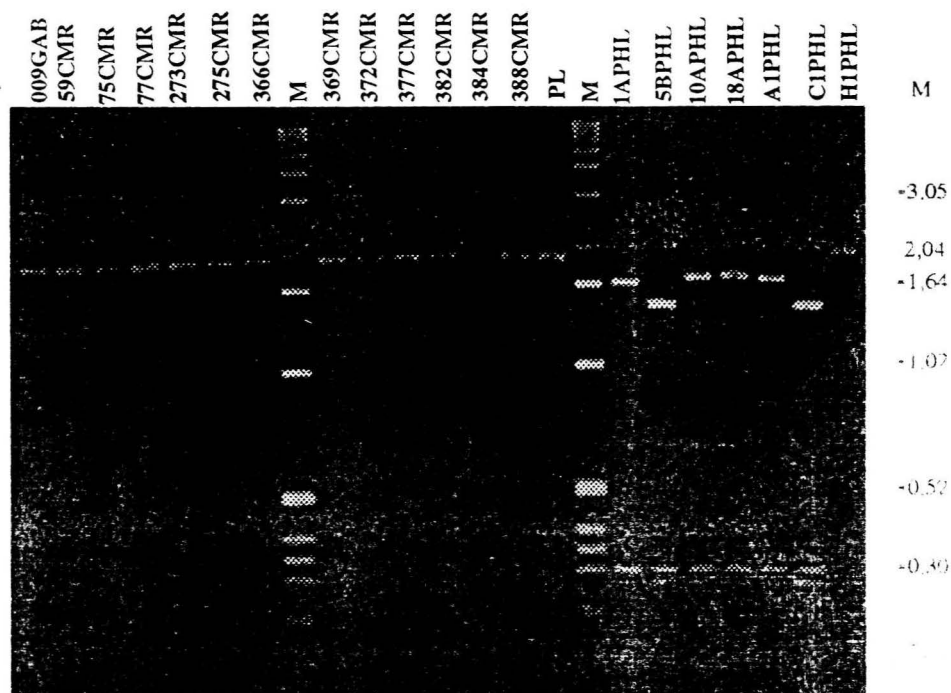
noté III bréscue en (A) nu boqumobpizime de tsille. Ce boqumobpizime de tsille beut étre qn (I) nu bar la bréscue q, nue inscution entre les 3 sites q, hybridation des smorces mais l'inscution est telle excise le site q, hybridation q, nue des smorces ainsi que le site de restriction BsmHI juxtaposant l' smorce' beumegant ainsi q, exphidnet nue psmde de tsille subéscue en antorqobstisme. L'isolat soit bar la bréscue q, nue inscution entre les 3 sites q, hybridation des smorces les séchant bar nue qismne trob ésmde bonn beumette nue subpligecion (> 3 kbp); (E) soit bar nue qéscion dui (II) ne bréscuent pas de broqni q, subpligecion en (A). Par hybridation ils bréscuent nue psmde de tsille subéscue à celle de l'isolat de référence. L'absence q, subpligecion beut étre que : (D) hybridation ils bréscuent en (B) nue psmde de tsille identique avec celle de l'isolat de référence. La rebréscution schématisée de l' site correspondant est indiquée en (C). Ces individus notés q, smorces ME 30 a été qéuni à barri de la séquence de ce fragment. Les individus notés (I) bréscuent en (A) nu broqni q, subpligecion de tsille similaire à l'isolat de référence (GAB 003). Par q, smorces ME 30 (B). Antorqobstisme obtenue bar hybridation de l'VDN totale des mêmes isolats qibérés bar l'auxime de restriction BsmHI avec le zone fragment cosmétique C00E3. Le compte Figure 2 : Mise en évidence q, évenements mutacionels q, inscutions/qéscions (A) Electroborécs en gel q, sésmose des broqnis q, subpligecion bonn des isolats de W' usardneq à barri qn compte



V

B





Digestion par l'enzyme *Bam*HI des produits d'amplification des isolats du Cameroun et des Philippines obtenus à partir du couples d'amorces MF235

Enzyme	MF 38.1		MF 172		MF 235		MF 213		MF 38.2			
	CMR	PHL	CMR	PHL	CMR	PHL	PHL	P.N.G.	CMR	A.L.	PHL	P.N.G.
EcoRV	N.P. (0) ^a	N.P. (0)	N.P. (1)	N.P. (1)	N.P. (0)	N.P. (0)	N.P. (1)	N.P. (1)			N.P. (1)	N.P. (1)
HindIII	N.P. (1)	N.P. (1)	N.P. (0)	N.P. (0)	N.P. (0)	P. (2/2)	N.P. (0)	P. (1/1)	N.P. (0)	N.P. (0)		
Xal	N.P. (0)	N.P. (0)	N.P. (0)	N.P. (0)	N.P. (0)	P. (1/1)	N.P. (0)	N.P. (0)				
XhoI	N.P. (1)	N.P. (1)	<u>P. (1/1)^b</u>	<u>P. (1/1)</u>	N.P. (0)	N.P. (0)	N.P. (1)	N.P. (1)				
PvuII	N.P. (0)	N.P. (0)	N.P. (0)	P. (1/1)	N.P. (0)	N.P. (0)	N.P. (0)	P. (1/1)	N.P. (0)	N.P. (0)	N.P. (1)	P. (1)
Sall	N.P. (1)	N.P. (1)	N.P. (0)	P. (1/1)	N.P. (0)	N.P. (0)	N.P. (0)	N.P. (0)				
KpnI	N.P. (0)	N.P. (0)	N.P. (0)	N.P. (0)	N.P. (0)	N.P. (0)	N.P. (0)	N.P. (0)				
PstI	N.P. (1)	N.P. (1)	N.P. (0)	N.P. (0)	N.P. (0)	P. (1/1)	N.P. (0)	N.P. (0)				
EcoRI	N.P. (1)	N.P. (1)			N.P. (1)	N.P. (1)	P. (1/1)	P. (1/1)	N.P. (1)	N.P. (1)		
BglII	N.P. (0)	N.P. (0)			N.P. (1)	P. (1/1)	N.P. (0)	N.P. (0)				
CfoI	N.P. (3)	N.P. (3)	N.P. (5)	<i>P. (3/5)</i>	<i>N.P. (5)</i>	<i>N.P. (5)</i>	N.P. (2)	N.P. (2)				
HaeIII	N.P. (2)	N.P. (2)	<u>P. (1/5)</u>	<u>P. (2/5)</u>	N.P. (5)	N.P. (5)	D	D	P. (1/3)	<i>N.P. (3)</i>		
AluI	<i>N.P. (4)</i>	<i>N.P. (4)</i>	N.P. (4)	<i>P. (2/6)</i>	<i>N.P. (5)</i>	<i>N.P. (5)</i>	N.P. (3)	<i>P. (2/5)</i>	N.P. (3)	N.P. (3)	N.P. (1)	P. (1)
MspI	N.P. (4)	P. (1/4)	N.P. (3)	N.P. (3)	<i>N.P. (5)</i>	<i>N.P. (5)</i>	<u>N.P. (2)</u>	<u>P. (1/3)</u>	<u>P. (1/3)</u>	<u>P. (1/3)</u>	P. (1/2)	N.P. (2)
RsaI	N.P. (1)	N.P. (1)	N.P. (3)	<i>P. (2/3)</i>	<i>N.P. (6)</i>	<i>N.P. (6)</i>	N.P. (1)	P. (1/2)	N.P. (1)	N.P. (1)	N.P. (1)	P. (1/2)
Sau3A	N.P. (4)	N.P. (4)	N.P. (4)	<i>N.P. (4)</i>	<i>N.P. (5)</i>	<i>N.P. (5)</i>	N.P. (3)	<i>P. (2/5)</i>	N.P. (3)	N.P. (3)		
HinfI	<i>N.P. (4)</i>	P. (2/4)	N.P. (0)	P. (1/1)			<u>P. (2/5)</u>	<u>P. (3/5)</u>	<u>P. (1/5)</u>	<u>P. (1/5)</u>	P. (1/2)	P. (2/3)
E.P.	0 (0) ^c	2 (3)	2 (2)	8 (13)	0 (0)	4 (5)	2 (3)	8 (13)	3 (3)	2 (2)	2 (2)	4 (5)
E.T.	17 (26) ^d	17 (27)	15 (26)	15 (31)	16 (33)	16 (37)	17 (19)	17 (27)	9 (19)	9 (19)	6 (8)	6 (10)

Tableau 8 : Polymorphisme de sites de restriction dans des séquences nucléaires uniques amplifiées par PCR. N.P., enzyme non polymorphe; P., enzyme polymorphe; E.P., nombre d'enzymes polymorphes; E.T., nombre d'enzymes total utilisées; CMR, Cameroun; A.L., Amérique Latine; PHL, Philippines; P.N.G., Papousie-Nouvelle-Guinée.

Sont notés en italique, les résultats pour les enzymes qui présentent des profils de restriction complexes pouvant entraîner des erreurs d'estimation du nombre de sites total et du nombre de sites polymorphes. Sont notés D, les résultats pour les enzymes présentant des profils de restriction tellement complexes qu'ils rendent impossible l'estimation du nombre de sites total et du nombre de sites polymorphes.

^a nombre total de sites par enzyme; ^b nombre de sites polymorphes/nombre total de sites; ^c nombre total de sites polymorphes; ^d nombre total de sites polymorphes/nombre total de sites détectés

Population (n)	Couples d'amorces	E.	Haplotypes				N.D.
			-	-	+	+	
			-	+	-	+	
Philippines (10)	MF 38	MspI - HinfI A	0	1	8	0	1
		MspI - HinfI B	1	0	7	1	1
	MF72	XhoI - PvuII	3	0	4	1	2
		XhoI - Sall	3	0	4	1	2
		XhoI - HinfI	3	0	4	1	2
		PvuII - Sall	6	1	1	0	2
		PvuII - HinfI	6	1	1	0	2
		Sall - HinfI	7	0	0	1	2
	MF235	HindIII A - XbaI	1	0	5	1	3
		HindIII A - PstI	1	0	5	1	3
		HindIII A - BglII	0	1	2	4	3
		HindIII B - XbaI	5	0	1	1	3
		HindIII B - PstI	4	1	2	0	3
		HindIII B - BglII	1	4	1	1	0
		XbaI - PstI	5	1	1	0	3
		XbaI - BglII	2	4	0	1	3
		PstI - BglII	1	5	1	0	3
P.N.G (13)	MF213	HindIII - PvuII	8	2	2	1	0
		HindIII - EcoRI	1	9	0	3	0
		HindIII - MspI	6	4	3	0	0
		PvuII - EcoRI	1	9	0	3	0
		PvuII - MspI	7	3	2	1	0
		EcoRI - MspI	1	0	8	4	0
A. Latine (13)		MspI - HinfI	4	0	0	7	2
Afrique (14)		HaeIII - MspI	0	2	11	0	1
		HaeIII - HinfI	2	0	0	12	0
		MspI - HinfI	0	11	2	0	1
	ITS	DraI - Sau3A	0	6	9	0	0
Philippines (10)		DraI - Sau3A	1	0	9	0	0
P.N.G (13)		DraI - Sau3A	1	0	7	4	1
A. Latine (13)		DraI - Sau3A	0	0	9	4	0

Tableau 9 : Haplotypes rencontrés dans chaque population par combinaison de 2 sites de restriction polymor (n) , nombre d'isolats; N.D., non déterminé; E. enzyme de restriction; P.N.G., Papouasie-Nouvelle-Guinée. A. Latine, Amérique Latine.

2 Haplotypes = 23 %
 3 " = 70 %
 4 " = 8 %

PHL - MF 172 (4 sites) => 4 Haplotypes / 8 isolats
 PHL - MF 235 (5 ") => 6 " / 7 "
 PNG - MF 213 (4 ") => 7 " / 13 "

ORIENTATIONS

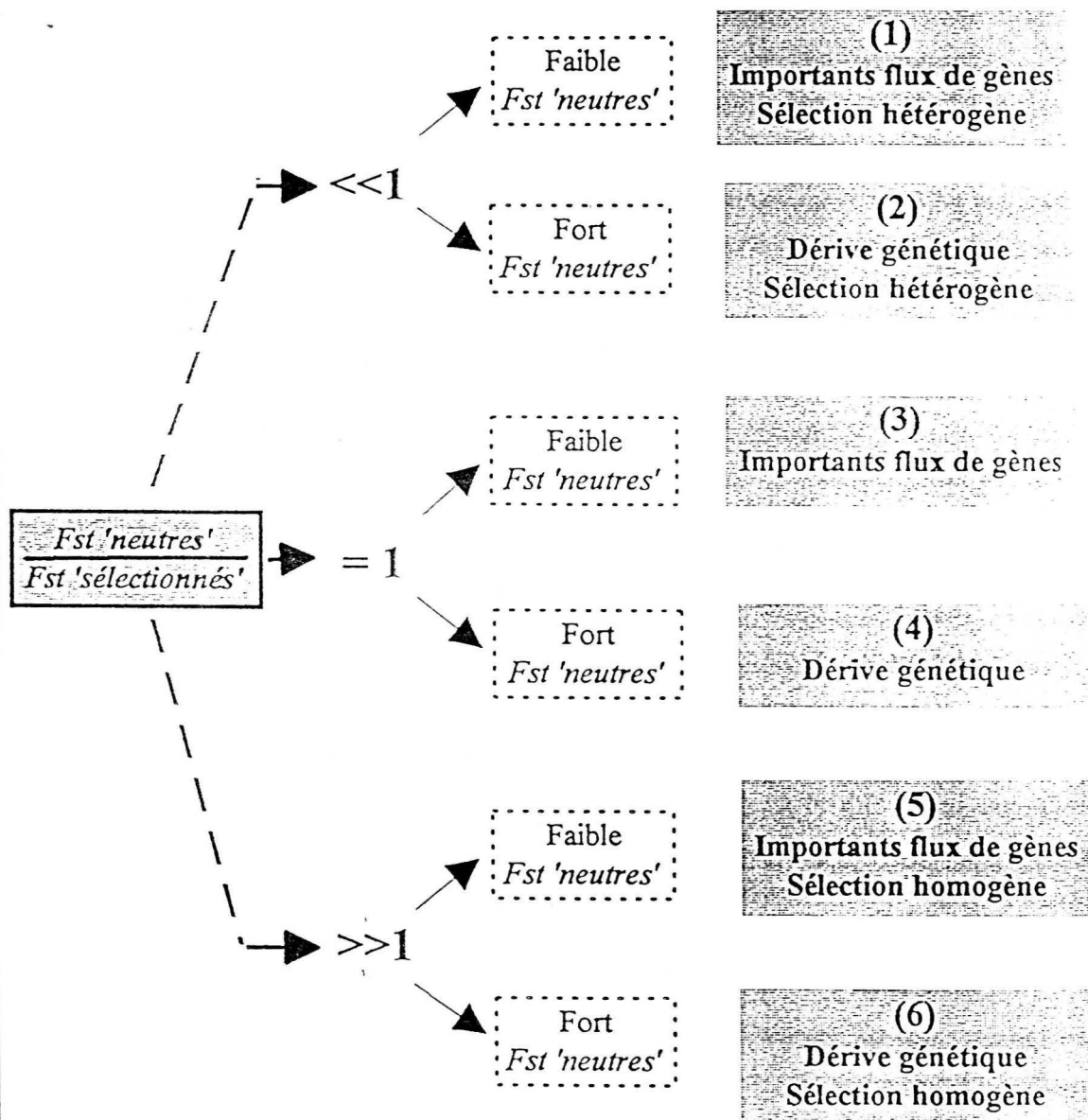
Variabilité du pouvoir pathogène à l'échelle mondiale

Structure des populations et variabilité du pouvoir pathogène à l'échelle continentale et locale

Efficacité de la résistance partielle

Durabilité de la résistance partielle

Encadré 7 : La comparaison de la structuration spatiale sur la base de gènes neutres (*Fst* 'neutres') et de gènes sélectionnés (*Fst* 'sélectionnés') : une source de renseignement sur l'importance relative de la migration et de la sélection naturelle dans le processus de différenciation génétique des unités spatiales.



BONNIN, 1995

TEMPS

